

B01

## Flunitrazepam ( FM2 ) 單株抗體生產之研究

### Studies on the Development of Production of Monoclonal Antibodies against Flunitrazepam ( FM2 )

周淑芬(Shu-Fen Chou)<sup>1\*</sup>、黃國旭(Guo-Xu Huang)<sup>1</sup>、張竣凱(Jiunn-Kae Chang)<sup>1</sup>、楊朝成  
(Chau-Chen Yang)<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 嘉南藥理科技大學生物科技系

<sup>2</sup> 嘉南藥理科技大學化粧品科技研究所

Corresponding author: Shu-Fen Chou ,E-mail:chouf@mail.chna.edu.tw

#### 摘要

**背景與目的：**FM2 學名為 Flunitrazepam，商品名為 Rohypnol，FM 為學名前後英文字母的縮寫；其商業製劑每顆通常為 2 毫克，因此得名為 FM2。屬於 Benzodiazepine 類的鎮靜劑，在世界各國幾乎都使用此藥作為中長效性安眠藥，而因為其無色無味有很好的水溶性，溶解後不易被察覺，常將其滲入飲料迷昏女性，再加以強暴，故有「約會強暴丸」之稱。分子式為 C<sub>16</sub>H<sub>12</sub>FN<sub>3</sub>O<sub>3</sub>，分子量為 313.3 Dalton。口服後可被人體完全吸收，其藥理機轉為先活化 GABA(γ-Aminobutyric acid; γ-胺基丁酸)，使其作用於 GABA receptor 上，進而活化副交感神經使人達到放鬆目的；因為 GABA 是抑制性的神經傳導物質，除了有鎮靜效果，還具有安神、肌肉鬆弛、抗癲的療效。本篇研究目的為生產製備具有辨識 FM2 分子能力的單株抗體。**方法：**首先，由於 FM2 分子量太小，在生產抗體的過程上會遇到無法發生體液性免疫的反應，因此要先把 FM2 運用 bioconjugate 的方式接在其他大分子量蛋白質上面，而我們目前選定之蛋白質為牛血清蛋白(bovine serum albumin; BSA)。於製備出「藥物-蛋白質生物共軛物」後，以小鼠腹腔注射免疫的方式，才可能會誘導免疫反應。本研究採用 6~8 週齡 balb/cJ 小鼠來生產單株抗體。方式為取 50 μg 生物共軛物加入 0.5ml PBS 溶液與 0.5ml 弗氏佐劑混合均勻，除了第一次免疫使用弗氏完全佐劑，其餘皆使用弗氏不完全佐劑乳化抗原進行免疫。分別在第一次免疫前與第四次免疫後十天採血，並利用間接型 ELISA 檢測免疫小鼠血清中相對應的抗體情形。於第四次免疫三週後進行最後加強注射 0.5ml 不含佐劑的抗原，並在五天後取免疫小鼠脾細胞以及小鼠骨髓瘤細胞(NS-1)進行細胞融合，融合當天為 Day0 (D(0))。其後十天進行 HAT 的細胞篩選，只有融合成功的細胞株才會存活下來，並分別於 D10、D20 取上層培養液進行間接型 ELISA 檢測細胞分泌抗體的情況。**結果：**(一)化學合成生物共軛物：在利用 ESI-Q-TOF MS 分析蛋白質上 FM2 的鍵結數目，顯示有 0.9-7 個 FM2 鍵結(二)ELISA 效價分析：血清效價於第四次免疫後呈現增加的情形；在細胞融合效價方面亦呈現不錯的情形。**結論：**未來將繼續單株抗體生產工作的完成，並期能進一步應用於毒品濫用檢測工具的開發上。